UNIVERSITA' DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

420

G. TREGGI

Sul potere anticrittogamico della calciocianamide

NOTA III — COMPORTAMENTO, IN PRESENZA DI CALCIOCIANAMIDE, DI *SCLEROTIUM ROLFSII* SACC.

Estratto dagli « *Annali della Facoltà d'Agraria* », Vol. XXI

CASA EDITRICE COMM. U. GIARDINI - PISA - VIA S. BIBBIANA, 14-BIS

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
25 APR 1961

UNIVERSITA' DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

420

G. TREGGI

Sul potere anticrittogamico della calciocianamide

NOTA III — COMPORTAMENTO, IN PRESENZA DI CALCIOCIANAMIDE, DI *SCLEROTIUM ROLFSII* SACC.

Estratto dagli « *Annali della Facoltà d'Agraria* », Vol. XXI

CASA EDITRICE COMM. U. GIARDINI - PISA - VIA S. BIBBIANA, 14-BIS

G. TREGGI

SUL POTERE ANTICRITTOGAMICO DELLA CALCIOCIANAMIDE

Nota III - Comportamento, in presenza di calciocianamide, di *Sclerotium Rolfsii* Sacc.

Nel 1954, come da una precedente segnalazione di questo Istituto [1], si ebbero a lamentare nella Provincia di Lucca forti attacchi da *Sclerotium Rolfsii* Sacc. su culture di pomodoro e peperone. Ciò si ripeteva anche negli anni successivi.

Quest'anno, gli stessi attacchi, sono stati riscontrati di molto minore gravità; e siccome, per le comuni concimazioni azotate, gli agricoltori della zona avevano fatto impiego di calciocianamide, nella decorsa e nella presente annata agraria, non potevamo escludere, fra l'altro, nella limitazione della malattia, una qualche azione di questo concime, atteso il suo relativo potere anticrittogamico [2].

Ci apparve quindi interessante saggiare in vitro il comportamento di *Sclerotium Rolfsii* Sacc., in ceppi già a suo tempo isolati da piante ammalate della ricordata zona, in presenza di calciocianamide, non avendosi all'oggetto che scarse osservazoni.

E' dato solo ricordare, infatti, un lavoro di DAVEY e LEACH [3] i quali trovano che le formazioni scleroziali non sopravvivono qualora vengano immerse per 120 h in una soluzione a 2.400 ppm di calciocianamide, ed una osservazione di WEST [4] che nota una considerevole limitazione nello sviluppo di *Sclerotium Rolfsii* su culture di Lupino quando il terreno infetto venga concimato con calciocianamide.

*
* *

Con la ricerca di cui è oggetto la presente nota, si è quindi inteso:

1° di stabilire la dose di calciocianamide totalmente inibente la germinazione degli sclerozi

2° di rilevare l'andamento dello sviluppo micelico negli sclerozi che apparivano germinati in presenza di dosi di composto inferiore alla dose inibente.

La prova è stata condotta su substrato artificiale addizionato, in dosi seriate, di calciocianamide; a lato, si è anche usato, quale substrato, del terreno di medio impasto arricchito col 2% di amido solubile, onde portarci il più vicino possibile alle condizioni naturali di vita del patogeno che, è noto, permane lungamente nel terreno nella sua forma scleroziale.

La ricerca della dose inibente è stata effettuata usando calciocianamide commerciale incorporata ad agar-fagiuoli sterile distribuito in piastre Petri.

Sulla superficie delle piastre furono disposti n. 8 sclerozi per piastra, prelevati da culture di 40 giorni di età.

Le dosi di composto saggiate sono state:

0,015%-0,030%-0,060%-0,120%-0,240%

Per ogni dose sono state allestite 6 piastre; stesso numero per il controllo. Ogni 24 h si effettuava il conteggio degli sclerozi germinanti e non, ottenendosi i risultati cui alla tabella n. 1.

Tab. 1 - Percentuali di sclerozi di *Sclerotium Rolfsii* Sacc. germinati in sbstrato contenente H_2CN_2.

Dosi % H_2CN_2	% di sclerozi germinati dopo giorni												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
C	72	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
0,015	—	—	40	80	82	83	83	83	83	83	83	83	
0,030	—	—	24	40	56	64	64	64	64	64	64	64	
0,060	—	—	20	32	32	42	42	42	42	42	42	42	(+)
0,120	—	—	—	—	—	10	10	10	10	10	10	10	(+)
0,240	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	(°)

(°) A tale dose gli sclerozi non germinano. Infatti, non consideriamo germinato lo sclerozio che, sulla superficie superiore, non in contatto con il substrato, produce poche ife che tosto muoiono.

(+) Gli sclerozi a queste dosi germinano; ma il micelio, dopo un primo sviluppo, arresta la crescita e si autolisizza.

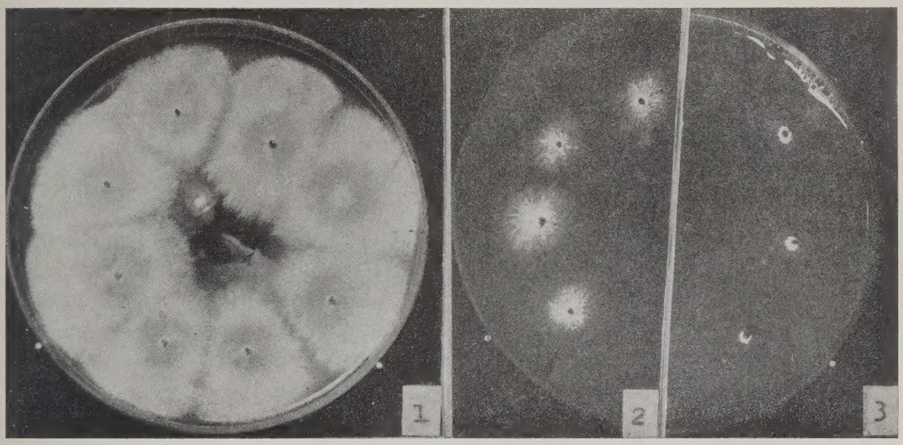

Fig. 1 - Germinazione di sclerozi in agar-fagiuoli saccarosato senza calciocianamide (1) o con calciocianamide 0,015% (2) e 0,03% (3).

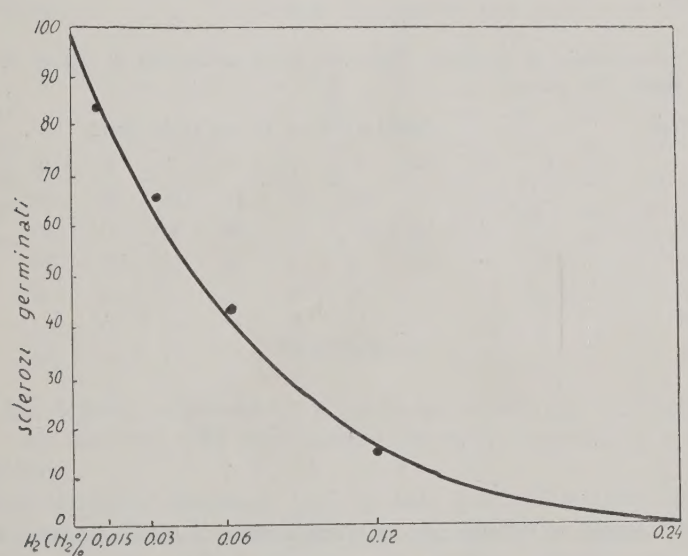

Fig. 2 - Numero di sclerozi germinati in presenza di dosi diverse di calciocianamide.

*
* *

Per seguire l'influenza esercitata da dosi crescenti di calciocianamide nel mezzo di coltura sullo sviluppo ed accrescimento del micelio di *Sclerotium Rolfsii*, si sono allestite piastre Petri analogamente a quanto fatto per la prova precedente. L'inficiamento, è stato realizzato con un solo sclerozio posto al centro della piastra. Prove in sestuplo. Ogni 24 h veniva controllato l'accrescimento mediante rilievo del diametro della colonia. Ai risultati, in tab. 2, è da aggiungere che fino al 4° giorno, si ebbe nelle piastre contenenti lo 0,03 e lo 0,06 di H_2CN_2 uno sviluppo discreto di micelio, mentre nelle piastre contenenti lo 0,120 e lo 0,240 il micelio si presentava, anche nei primissimi giorni, assai tenue, raggiato, quasi ragnateloso.

Dal 5° gorno si notò nelle piastre a concentrazione 0,03 e 0,06%, una netta stasi nella crescita miceliare, e, in alcune, addirittura una leggera rarefazione del feltro costituito dalle ife; alla stessa data, nelle concentrazioni dello 0,120 e 0,240%, in quasi tutte le piastre, il feltro micelico, già tenuissimo, andava scomparendo fino a defezione completa nel giro di ulteriori 3-4 giorni.

Tab. 2 - Accrescimento di Sclerotium Rolfsii in mezzo addizionato di H_2CN_2. Il dato è media di 6 piastre.

Concentraz.	diametro colonie in mm dopo giorni									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C	—	13	19	26	34	42	51	63	72	81
0,015	—	4	6	13	19	26	34	41	50	61
0,030	—	—	—	4	4	9	12	16	18	18
0.060	—	—	—	4	4	4	7	9	9	9
0,120	—	—	—	tr	tr	tr	tr	tr	—	—
0,240	—	—	—	tr	tr	tr	—	—	—	—

*
* *

Per il saggio su terreno, si è adoperata terra di medio impasto sterilizzata a vapore fluente, ed in seguito asciugata in forno Pasteur, alla quale si addizionò H_2CN_2 nelle dosi precedentemente indicate, arricchendola inoltre con il 2% di amido solubile.

L'umidità fu raggiunta mediante acqua sterile, fino al 55% circa del potere di imbibizione del terreno, condizione già precedentemente riscontrata quale ottimale per lo sviluppo di *Sclerotium Rolfsii* (l. c.).

Sulla superficie delle piastre venivano posti n. 2 sclerozi ciascuna, prelevati da coltura di 40 giorni.

Ogni 24 h si controllava il numero di sclerozi germinati.

I risultati a tab. 3; anche qui è da notare come il micelio, specie nelle concentrazioni alte, abbia vita molto breve e sviluppo ridottissimo. In confronto però, alla prova in agar-fagiuoli,, si è avuta germinazione di sclerozi anche alla concentrazione dello 0,240% di H_2CN_2.

Gli sclerozi non germinati su terreno addizionato di H_2CN_2 sono stati riseminati su piastre di agar-fagiuoli saccarosato, ad eccezione di 2 sclerozi provenienti dalle piastre con terreno addizionato dello 0,24%, tutti hanno germinato sia pure con lentezza e sviluppo miceliare ridottissimo.

Tab. 3 - Germinazione degli sclerozi di *Sclerotium Rolfsii* in terreno addizionato di H_2CN_2. I dati sono media di 6 piastre.

Concentraz.	sclerozi (%) germinati dopo giorni:									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C	51	68	79	93	93	93	93	93	93	93
0,015	—	—	43	57	64	64	64	64	64	64
0,030	—	—	18	18	26	26	42	42	42	42
0,060	—	—	10	15	22	24	31	31	31	31
0,120	—	—	—	10	18	18	18	18	18	18
0,240	—	—	—	6	6	12	12	12	12	12

Conclusioni

I dati desunti dalle suesposte prove hanno confermato l'azione inibente della calciocianamide sulla germinazione dei corpi sclerozíali di *Sclerotium Rolfsii* Sacc.

Particolarmente importante l'azione delle dosi 0,03 e 0.06% di H_2CN_2 le quali, pur modeste, hanno inibito la germinazione di circa il 50% degli sclerozi.

Dalle esperienze, inoltre, è chiaramente emerso il fatto che, a tali concentrazioni, dopo breve tempo, anche gli sclerozi germinati perdono la loro

vitalità ed il micelio rimane ucciso dal composto presente nel mezzo.

Ciò aprirebbe una via di controllo delle infezioni in campo; è quanto ci promettiamo di vedere nella prossima annata.

(1) G. Treggi: *Attacchi di Sclerotium Rolfsii Sacc. su culture di pomodoro e peperone.* Annali Speriment. Agraria N .S. 1955.

(2) O. Verona: *Notizie intorno all'azione anticrittogamica della calciocianamide.* Agricoltura Italiana 1960.

(3) A. E. Davey e L. D. Leach: *Experiments with fungicides for use agaisant Sclerotium Rolfsii.* Hilgardia 13, 523; 1941.

(4) Annual report of the Agricultural Experiment Station, Florida, for the year ending june 30, 1946.